

12.06.00

日 本 国 特 許 庁

PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

PCT/JP 00/086 17

WIPO

PCT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日

Date of Application:

1999年 6月17日

1999.6.17

出 願 番 号

Application Number:

平成11年特許願第170796号

出 願 人

Applicant (s):

住友金属工業株式会社

REC'D 27 JUL 2000

WIPO

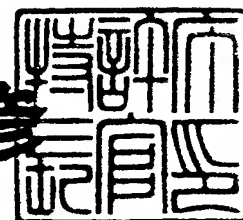
PCT

PRIORITY
DOCUMENTSUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2000年 6月29日

特 許 庁 長 官
Commissioner,
Patent Office

近 藤 隆 彦



出証番号 出証特2000-3054082

【書類名】 特許願

【整理番号】 1990463

【提出日】 平成11年 6月17日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 C30B 29/54
B01D 9/02

【発明者】

【住所又は居所】 兵庫県尼崎市扶桑町 1 番 8 号 住友金属工業株式会社エレクトロニクス技術研究所内

【氏名】 秋岡 幸司

【発明者】

【住所又は居所】 兵庫県尼崎市扶桑町 1 番 8 号 住友金属工業株式会社エレクトロニクス技術研究所内

【氏名】 三城 明

【特許出願人】

【識別番号】 000002118

【住所又は居所】 大阪府大阪市中央区北浜 4 丁目 5 番 3 3 号

【氏名又は名称】 住友金属工業株式会社

【代理人】

【識別番号】 100064746

【弁理士】

【氏名又は名称】 深見 久郎

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 008693

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9708996

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 有機分子の分離装置および分離方法ならびに有機分子の結晶作製方法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 溶液中に含まれる帯電した有機分子を前記溶液から分離するための装置であって、

金属、半導体およびそれらの化合物よりなる群から選ばれた互いに実質的に異なる材料からなる複数種の固体表面を備え、

前記複数種の固体表面は、同時に前記溶液に接触するよう配置されており、

前記複数種の固体表面のうち少なくとも 1 種は多孔性であり、かつ

前記複数種の固体表面は、前記溶液と接触するとき、互いに異なる表面電位またはゼータ電位を有するものであり、それにより、

前記複数種の固体表面のいずれかに、前記有機分子をより強く静電的に吸着させるようになっていることを特徴とする、有機分子の分離装置。

【請求項 2】 前記多孔性の固体表面は、残りの固体表面と異なる表面電位またはゼータ電位を有し、かつ前記多孔性の固体表面に、前記有機分子をより強く静電的に吸着させるようになっていることを特徴とする、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 3】 前記多孔性の固体表面は、前記有機分子のサイズと略同等またはそれ以下の孔径を有する孔を主として有することを特徴とする、請求項 1 または 2 に記載の装置。

【請求項 4】 前記多孔性の固体表面は、アルミナからなることを特徴とする、請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載の装置。

【請求項 5】 前記複数種の固体表面上で前記溶液を保持するための囲い壁を有することを特徴とする、請求項 1 ～ 4 のいずれか 1 項に記載の装置。

【請求項 6】 前記複数種の固体表面は、所定の領域において互いに隣合うよう配置され、かつ

前記所定の領域において、前記有機分子をより強く静電的に吸着させる固体表面が占める面積は、残りの固体表面が占める面積以下であることを特徴とする、

請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載の装置。

【請求項 7】 前記複数種の固体表面は、同一の半導体基板上に形成されており、

前記複数種の固体表面は、当該半導体基板の表面または当該半導体基板表面に形成された半導体化合物膜もしくは金属化合物膜の表面からなる第 1 の表面と、前記第 1 の表面上の所定の領域に形成される半導体化合物のアイランドまたは金属化合物のアイランドの表面からなる多孔性の第 2 の表面とを含み、かつ

前記第 1 の表面および前記第 2 の表面は、前記溶液と接触するとき、互いに異なる表面電位またはゼータ電位を有するものであり、それにより、前記第 2 の表面に前記有機分子をより強く静電的に吸着させるようになっていることを特徴とする、請求項 1 ～ 6 のいずれか 1 項に記載の装置。

【請求項 8】 前記半導体基板がシリコン基板であり、前記第 2 の表面がアルミナで形成されていることを特徴とする、請求項 7 に記載の装置。

【請求項 9】 前記有機分子を含む溶液の pH を測定するための手段をさらに備えることを特徴とする、請求項 1 ～ 8 のいずれか 1 項に記載の装置。

【請求項 10】 前記 pH 測定手段は、
半導体層と、
前記半導体層上に形成される絶縁層と、
前記溶液を前記絶縁層上で保持するための囲い壁と、
前記溶液に接触するように前記囲い壁に設けられる金属電極とを備えることを特徴とする、請求項 9 に記載の装置。

【請求項 11】 前記複数種の固体表面および前記 pH 測定手段は、同一の半導体基板上に形成されており、

前記 pH 測定手段における前記半導体層は、前記半導体基板の一部であり、
前記複数種の固体表面は、当該半導体基板の表面または当該半導体基板表面に形成された半導体化合物膜もしくは金属化合物膜の表面からなる第 1 の表面と、前記第 1 の表面上の所定の領域に形成される半導体化合物のアイランドまたは金属化合物のアイランドの表面からなる多孔性の第 2 の表面とを含み、かつ

前記第 1 の表面および前記第 2 の表面は、前記溶液と接触するとき、互いに異

なる表面電位またはゼータ電位を有するものであり、それにより、前記第 2 の表面に前記有機分子をより強く静電的に吸着させるようになっていることを特徴とする、請求項 1 0 に記載の装置。

【請求項 1 2】 前記半導体基板がシリコン基板であり、前記第 2 の表面がアルミナで形成されていることを特徴とする、請求項 1 1 に記載の装置。

【請求項 1 3】 前記複数の固体表面を与える材料は、積層構造を有し、
前記積層構造において、上層に位置する材料は、下層に位置する材料上の複数の位置に、間隔をあけて設けられていることを特徴とする、請求項 1 ～ 1 2 のいずれか 1 項に記載の装置。

【請求項 1 4】 溶液中に含まれる帯電した有機分子を前記溶液から分離するための方法であって、

前記有機分子を含み、かつ前記有機分子の等電点以外の pH を有する溶液を、請求項 1 ～ 1 3 のいずれか 1 項に記載される装置の前記複数種の固体表面に接触させる工程を備えることを特徴とする、有機分子の分離方法。

【請求項 1 5】 前記有機分子を含む溶液の pH は、前記複数の固体表面のうち少なくとも 1 つに前記有機分子と逆の極性の表面電位またはゼータ電位をもたらすものであり、かつ残りの固体表面に前記有機分子と同じ極性の表面電位またはゼータ電位をもたらすものであることを特徴とする、請求項 1 4 に記載の方法。

【請求項 1 6】 溶液中に含まれる帯電した有機分子の結晶を作製する方法であって、

前記有機分子を含み、かつ前記有機分子の等電点以外の pH を有する溶液を、請求項 1 ～ 1 3 のいずれか 1 項に記載される装置の前記複数種の固体表面に接触させる工程と、

前記装置を沈殿剤と共に密封して、前記複数種の固体表面に前記溶液が接触している状態を所定時間維持する工程と
を備えることを特徴とする、有機分子の結晶作製方法。

【請求項 1 7】 前記有機分子を含む溶液の pH は、前記複数種の固体表面のうち少なくとも 1 つに前記有機分子と逆の極性の表面電位またはゼータ電位を

もたらすものであり、かつ残りの固体表面に前記有機分子と同じ極性の表面電位またはゼータ電位をもたらすものであることを特徴とする、請求項 16 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、有機分子の分離装置および分離方法に関し、特に、タンパク質、酵素等の種々の生体高分子、およびそれらの複合体を含む有機高分子の結晶化に適用される分離装置および分離方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

タンパク質等の生体高分子の結晶化は、通常は無機塩等の低分子量化合物の場合と同様、高分子を含む水または非水溶液から溶媒を奪う処理を施すことにより、過飽和状態にして、結晶を成長させるのが基本となっている。このための代表的な方法として、バッチ法、透析法および気液相間拡散法があり、これらは、試料の種類、量、性質等によって使い分けられている。

【0003】

図 25 (a) および図 25 (b) は、気液相間拡散法に含まれるハンギングドロップ法およびシッティングドロップ法を概略的に示す。図 22 (a) に示すハンギングドロップ法では、沈殿剤 222 を収容する密閉容器 220 内において、結晶化すべき生体高分子を含む母液 221 が垂下される。図 22 (b) に示すシッティングドロップ法では、密閉容器 230 内において、プレート 233 上に結晶化すべき生体高分子を含む母液 221 が置かれる。沈殿剤 222 は、密閉容器 230 内において、別の容器 231 に収容される。これらの方法では、沈殿剤および母液中の揮発成分の蒸発によって、緩やかに平衡が成立する。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】

X線結晶構造解析により生体高分子の 3 次元構造を決定するためには、目的とする物質を抽出・精製後、結晶化することが必須となる。しかし、現在のところ

、どの物質に対しても適用すれば必ず結晶化できるといった手法および装置がないため、勘と経験に頼ったトライアンドエラーを繰り返しながら結晶化を進めているのが実状である。生体高分子の結晶を得るためには、非常に多くの実験条件による探索が必要であり、結晶成長がX線結晶解析の分野での最も大きなボトルネックとなっている。

【0005】

本発明の目的は、上述したように多様な特性を有するために試行錯誤を繰り返しながら進められてきた従来の結晶化プロセスの欠点を技術的に解消することである。

【0006】

具体的には、本発明の目的は、種々の生体高分子および生体高分子から主として構成される生体組織の結晶化において、重力の影響による溶液内の対流の影響を低減し、核形成を制御する技術を提供することである。

【0007】

さらなる本発明の目的は、微結晶の大量生成を抑制または制御し、X線構造解析を可能にし得る大型の結晶を得ることができる技術を提供することである。

【0008】

さらなる本発明の目的は、少量の生体高分子溶液で、結晶化を可能にするための技術を提供することである。

【0009】

さらに本発明の目的は、少量の溶液で結晶化を可能にするための方法および装置を提供することにある。

【0010】

【課題を解決するための手段】

本発明により、溶液中に含まれる帯電した有機分子を前記溶液から分離するための装置が提供され、この装置は、金属、半導体およびそれらの化合物よりなる群から選ばれた互いに実質的に異なる材料からなる複数種の固体表面を備える。この装置において、複数種の固体表面は、同時に溶液に接触するように配置されており、複数種の固体表面のうち少なくとも1種は多孔性であり、かつ複数種の固

体表面は、溶液と接触するとき、互いに異なる表面電位またはゼータ電位を有するものであり、それにより、複数種の固体表面のいずれかに、有機分子をより強く静電的に吸着させるようになっている。

【0011】

本発明による装置において、多孔性の固体表面は、残りの固体表面と異なる表面電位またはゼータ電位を有し、かつ該多孔性の固体表面に、有機分子をより強く静電的に吸着させるようになっていることが好ましい。多孔性の固体表面は、分離すべき有機分子のサイズと略同等またはそれ以下の孔径を有する孔を主として有することが好ましい。また、多孔性の固体表面は、アルミナからなることが好ましい。

【0012】

本発明による装置は、複数種の固体表面上で溶液を保持するための囲い壁を有することが好ましい。

【0013】

本発明による装置において、複数種の固体表面は、所定の領域において互いに隣合うよう配置することができ、かつ当該所定の領域において、有機分子をより強く静電的に吸着させる固体表面が占める面積は、残りの固体表面が占める面積以下とすることができる。

【0014】

本発明による装置において、複数種の固体表面は、同一の半導体基板上に形成することができる。この場合、複数種の固体表面は、当該半導体基板の表面または当該半導体基板表面に形成された半導体化合物膜もしくは金属化合物膜の表面からなる第1の表面と、第1の表面上の所定の領域に形成される半導体化合物のアイランドまたは金属化合物のアイランドの表面からなる多孔性の第2の表面とを含むことができる。第1の表面および第2の表面は、溶液と接触するとき、互いに異なる表面電位またはゼータ電位を有する。当該半導体基板をシリコン基板とすることができ、さらに第2の表面をアルミナで形成することができる。

【0015】

本発明による装置は、有機分子を含む溶液のpHを測定するための手段をさら

に備えることが好ましい。この pH 測定手段は、半導体層と、半導体層上に形成される絶縁層と、溶液を絶縁層上で保持するための囲い壁と、溶液に接触するように囲い壁に固着されている金属電極とを備えることができる。

【0016】

本発明による装置において、複数種の固体表面および pH 測定手段は、同一の半導体基板上に形成することができる。pH 測定手段における半導体層は、半導体基板の一部とすることができ、また、複数種の固体表面は、当該半導体基板の表面または当該半導体基板表面に形成された半導体化合物膜もしくは金属化合物膜の表面からなる第 1 の表面と、第 1 の表面上の所定の領域に形成される半導体化合物のアイランドまたは金属化合物のアイランドの表面からなる多孔性の第 2 の表面とを含むことができる。第 1 の表面および第 2 の表面は、溶液と接触するとき、互いに異なる表面電位またはゼータ電位を有する。第 1 の表面はシリコンまたはシリコン酸化膜で形成することができ、また、第 2 の表面はアルミニウムの酸化物で形成することができる。

【0017】

本発明による装置において、複数の固体表面を与える材料は、積層構造を有してもよい。この積層構造において、上層に位置する材料は、下層に位置する材料上の複数の位置に、間隔をあけて設けられていることが好ましい。

【0018】

本発明により、溶液中に含まれる帯電した有機分子を溶液から分離するための方法が提供され、この方法は、有機分子を含み、かつ有機分子の等電点以外の pH を有する溶液を、上述した装置の複数種の固体表面に接触させる工程を備える。有機分子を含む溶液の pH は、複数種の固体表面のうち少なくとも 1 つに該有機分子と逆の極性の表面電位またはゼータ電位をもたらすものであることが好ましく、かつ残りの固体表面に該有機分子と同じ極性の表面電位またはゼータ電位をもたらすものであることが好ましい。

【0019】

本発明により、溶液中に含まれる帯電した有機分子の結晶を作製する方法が提供され、この方法は、有機分子を含み、かつ有機分子の等電点以外の pH を有す

る溶液を、上述した装置の複数種の固体表面に接触させる工程と、当該装置を沈殿剤と共に密封して、複数種の固体表面に溶液が接触している状態を所定時間維持する工程とを備える。有機分子を含む溶液のpHは、複数種の固体表面のうち少なくとも1つに該有機分子と逆の極性の表面電位またはゼータ電位をもたらすものであることが好ましく、かつ残りの固体表面に該有機分子と同じ極性の表面電位またはゼータ電位をもたらすものであることが好ましい。

【0020】

【発明の実施の形態】

蛋白質を初めとする生体高分子のほとんどは、溶液内において幾何学的に特異的な構造および静電的な相互作用（静電斥力・引力、ファンデルワールス力）によって分子間同士の認識が行なわれている。静電的なエネルギーに基づく分子間の相互作用においては、個々の分子最表面でのわずかな空間的な電荷分布の相違が、分子間の認識度合い、分子集合体の作りやすさに決定的な影響を及ぼすことが予想される。したがって、溶液内をブラウン運動しながら衝突を繰り返している個々の分子では、周期的かつ規則的な構造を有する分子集合体の核が非常に形成されにくいと考えられる。

【0021】

蛋白質分子の結晶生成に関しては、その核生成の初期過程が重要であるとの報告がなされている。結晶化の初期過程において核となる分子を2次元的に配列させる何らかの条件が整えば、その後の結晶化は、これを核としてエピタキシャル的に進行するものと考えられる。

【0022】

本発明による装置および方法は以下に説明するような作用機構に基づき、有機分子の多孔性固体表面への選択的吸着を行ない、その結果、その固体表面に結晶核が形成され、好ましい結晶成長をもたらすことができる。

【0023】

図1に示すように、本発明による装置10は、第1の表面11aを有する第1の固体11、および第2の表面12aを有する第2の固体を有する。第1の固体11と第2の固体は、実質的に異なる材料からなる。ここで、「実質的に異なる

」とは、固体を構成する主材料が異なっていることを意味する。固体を構成する材料は、金属、半導体、またはそれらの化合物、たとえば、酸化物、水酸化物、窒化物等である。装置 10 は、タンパク質等の分離または結晶化すべき有機分子 13 を含む溶液 14 と接触させられる。タンパク質等の有機分子 13 の表面は、その分子の等電点以外の pH を有する溶液において、通常、正または負に帯電している。一方、本発明による装置において、上述した材料の固体表面 11 a および 12 a も、溶液 14 中で帯電する。このとき、固体表面についての電位の大きさおよび極性は、固体の材質および溶液の pH に依存する。たとえば、ある pH の溶液中で、固体表面 11 a は負に帯電し、固体表面 12 a は正に帯電する。一方、有機分子 13 は、当該 pH の溶液中で負に帯電する。この場合、溶液 14 中の有機分子 13 は、有機分子 13 と逆の極性で帯電する固体表面 12 a に静電的な引力に従って選択的に吸着される。有機分子 13 と同じ極性で帯電する固体表面 11 a への吸着は、静電作用により阻害される。こうして、固体表面 12 a 上での有機分子 13 の分離が進められ、好ましくは、有機分子 13 の結晶核が形成され、結晶化が進められる。このように、帯電した有機分子を含む溶液中に、表面電位またはゼータ電位の異なる複数種の固体表面を設ければ、いずれかの固体表面で、当該有機分子を選択的に吸着させることができ、またその結果、当該固体表面に結晶核が形成されて、選択的に結晶化を進めることができる。

【0024】

一般に、タンパク質分子、コロイド粒子、ならびに金属、半導体、およびそれらの酸化物、水酸化物または窒化物などの化合物の表面は、水溶液中で、その溶液の pH 値によって定まる表面電位（一般にゼータ電位として測定できる）に帯電する。この表面電位が見かけ上ゼロになるときの溶液の pH 値が、等電点である。等電点は物質によって異なるが、この等電点より低い pH において物質は正に帯電し、等電点より高い pH において物質は負に帯電する。本発明は、このような物質の性質を利用して、有機分子の選択的分離を行なう。たとえば、図 2 に示すような関係が複数の固体表面と分離すべきタンパク質との間に成立するとする。曲線 S_1 は、第 1 の固体表面についての表面電位と pH との関係を表し、曲線 S_2 は、第 2 の固体表面についての表面電位と pH との関係を表し、曲線 P は

、タンパク質の表面電位と pH との関係を表す。第 1 の固体表面の等電点は 3、タンパク質の等電点は 6、第 2 の固体表面の等電点は 9 である。したがって、斜線で示す領域の pH (タンパク質の等電点と第 2 の固体表面の等電点の間の pH) を有する溶液において、第 1 の固体表面およびタンパク質は負に帯電し、第 2 の固体表面は正に帯電する。この pH 領域において、タンパク質は、第 2 の固体表面に静電引力により選択的に吸着または固定され、その結果、第 2 の固体表面でタンパク質の結晶成長が促進され得る。一方、タンパク質と第 1 の固体表面との間には、静電斥力が働く。一方、図 3 に示すような関係が成立するとする。この場合、第 1 の固体表面の等電点は 9、タンパク質の等電点は 6、第 2 の固体表面の等電点は 3 である。そして、第 2 の固体表面の等電点とタンパク質の等電点との間の pH を有する溶液において、第 1 の固体表面およびタンパク質は正に帯電し、第 2 の固体表面は負に帯電する。したがって、斜線に示す領域の pH において、静電引力により、タンパク質を第 2 の固体表面に選択的に吸着させることができる。このように、分離または結晶化すべき分子を含む溶液 (母液) に対し異なる帯電特性を示す複数種の固体表面を設ければ、母液の pH を適当な値に設定することで、いずれかの固体表面に選択的に分子を静電吸着させ、その結果、その固体表面に結晶核を形成させて、分子の結晶成長を起こさせることができる。

【0025】

たとえば、酸化シリコン (SiO_2) の等電点は 1.8~2.8 であり、したがって、それより低い pH において SiO_2 は正に帯電し、それより高い pH において負に帯電する。一方、アルミナ ($\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$) の等電点は 9 付近である ($\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ の等電点は 7.4~8.6 程度)。また、ほとんどのタンパク質は 4~7 の等電点を有する (たとえば、ヒト血清アルブミン 4.7~5.2、ウシインスリン 5.3~5.8、インターフェロン (ニワトリ胚) 7~8、ヒト成長ホルモン 4.9~5.2)。したがって、たとえば、図 1 に示す装置において、第 1 の固体 11 を SiO_2 とし、第 2 の固体 12 をアルミナとすれば、タンパク質を含み、かつ 6~8 の pH (タンパク質の等電点とアルミナの等電点との間の値) を有する溶液 14 中で、 SiO_2 は負に帯電し、アルミナは正に帯電する

。一方、4～7の等電点を有するタンパク質は、通常、負に帯電する。したがって、溶液中のタンパク質は、正に帯電するアルミナに選択的に吸着され得る。一方、タンパク質の SiO_2 上への吸着は阻害され得る。このように、 SiO_2 とアルミナとの組合わせは、選択的吸着に対し適当である。

【0026】

また、シリコン(Si)の等電点は添加されている不純物の種類や濃度によって異なるが、たとえば、一般的なn型Siの等電点は3.5～4程度であり、それより低いpHにおいてn型Si表面は正に帯電し、それより高いpHにおいて負に帯電する。また、一般的なp型Siの等電点は5～6程度である。したがって、図1に示す装置において、第1の固体11をn型Si基板とし、第2の固体12をSi基板上に形成されたアルミナとすれば、タンパク質を含み、かつ6～8のpH(タンパク質の等電点とアルミナの等電点の間の値)を有する溶液14中で、n型Siとタンパク質は負に、アルミナは正に帯電する。したがって、溶液中のタンパク質は、正に帯電するアルミナに選択的に吸着する一方で、負に帯電するSi上への吸着は阻害され得る。このように、シリコンとアルミナとの組合わせも、タンパク質分子の選択的吸着に対し適当である。

【0027】

本発明による装置において、それぞれの固体表面は、金属、半導体、金属化合物、または半導体化合物からなる。複数種の固体表面の組合わせは、任意であるが、分離すべき分子の等電点が、複数種の固体表面の等電点の間にくるよう、当該組合わせを選択することが望ましい。すなわち、図2および図3に示すように、分離すべき分子のpH-表面電位曲線が、複数種の固体表面のpH-表面電位曲線の間にくることが望ましい。好ましい半導体には、シリコン、ガリウム・ヒ素(GaAs)、ガリウム・リン(GaP)などがある。好ましい半導体化合物には、酸化シリコン、窒化シリコンなどがあり、好ましい金属化合物には、酸化アルミニウム($\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ 、 $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$)、酸化チタン、酸化銅などの金属酸化物や、窒化アルミニウム、窒化チタン、窒化タングステン、窒化タンタル、TaSiN、WSiNなどの金属窒化物や、水酸化アルミニウム、水酸化マグネシウムなどの金属水酸化物などがある。好ましい組合わせには、シリコン-アル

ミナ、酸化シリコン-アルミナ、窒化シリコン（等電点は4～5程度）-アルミナ、酸化シリコン-酸化チタン（等電点は5～6.5程度）、シリコン-酸化チタン、酸化チタン-アルミナなどがある。

【0028】

このような複数種の固体表面は、同一の基板上に形成することが好ましく、半導体基板上に形成することがより好ましく、特に、シリコン基板上に形成することが好ましい。たとえば、シリコン基板表面の所定の領域にのみアルミナを形成することで、シリコン-アルミナの組合わせが形成できる。また、シリコン基板表面全体にシリコン酸化膜（ SiO_2 膜）を形成し、その SiO_2 膜表面の所定の領域にのみアルミナを形成することで、酸化シリコン-アルミナの組合わせが形成できる。 SiO_2 膜に変えてシリコン窒化膜（ Si_3N_4 膜）を形成すれば、同様に窒化シリコン-アルミナの組合わせが形成でき、アルミナの代わりに酸化チタンを形成すれば、シリコン-酸化チタンや酸化シリコン-酸化チタンの組合わせを形成できる。

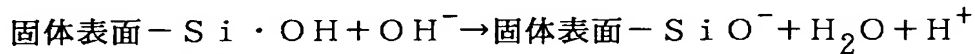
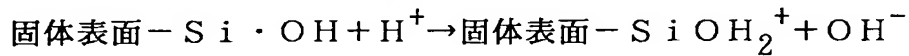
【0029】

半導体基板、より好ましくはシリコン基板を用いることで、CVD、ホトリソグラフィ、エッチング等の通常の半導体集積回路の製造と同様な手法によって、容易に複数種の固体表面を有する装置を作製できる。すなわち、CVD技術を用いてシリコン基板上に所望の材料の膜を成膜し、必要に応じてその上に異なる材料の膜を成膜して多層構造とし、ホトリソグラフィ技術を用いて所望の形状のマスクを形成し、エッチング技術を用いてマスクを施した領域以外を除去して下地を露出させれば、各種の組合わせの複数種の固体表面を有する装置を作製できる。たとえば、シリコン基板の表面にアルミナ膜を成膜し（アルミニウム膜を成膜し、それを陽極酸化してアルミナ膜とする場合を含む）、所定の領域のみを残して当該アルミナ膜をエッチングにより除去してシリコン基板の表面を露出させれば、シリコン-アルミナの組合わせが形成できる。また、シリコン基板表面にシリコン酸化膜を成膜し、さらにその上にアルミナ膜を成膜し、所定の領域のみを残してアルミナ膜をエッチングにより除去しシリコン酸化膜を露出させれば、酸化シリコン-アルミナの組合わせが形成できる。このように、シリコン基板

上に成膜する膜の材料を変えれば、容易に各種の組合わせが形成できる。

【0030】

金属もしくは半導体の酸化物または水酸化物の表面は、水と接すると水和を起こし、水酸基を生成させる。この水酸基の解離により、酸化物または水酸化物の表面は、水溶液のpHに応じて表面電位（ゼータ電位）を生じさせる。たとえば、 SiO_2 では次のような解離が生じる。



したがって、酸化物または水酸化物の表面は、低いpHで、プロトン付加により正の電位を帯び、高いpHで、OH基からのプロトンの引き抜きにより負の電位を帯びる。一般に、酸化物または水酸化物は、見かけ上の電位がゼロになる点（等電位点）を有し、この点より高いpHでは、負の表面電位を、この点より低いpHでは、正の表面電位を有する。したがって、異なる等電位点を有する酸化物または水酸化物の組合わせを選択し、本発明に好ましく用いることができる。

【0031】

また、詳細な機構は分からないが、窒化物の表面にも酸化物、水酸化物と同様に水溶液中でその水溶液のpHに応じた電位が発生する。たとえば、 Si_3N_4 の場合は等電点がおよそ4～5程度であって、それより低いpHで正の表面電位を、それより高いpHで負の表面電位を帯びる。

【0032】

さらに、図1に示す装置において、少なくとも固体表面12aは多孔性であり、この多孔性の固体表面12aに有機分子を選択的に吸着させるようになっている。固体表面11aは、多孔性であってもよいし、多孔性でなくともよい。

【0033】

多孔性の固体表面は、結晶化すべき分子が固定されやすい凹凸の地形を与える。上述したように静電的に引き寄せられた分子は、多孔性固体表面の凹部に嵌まり、強く固定され得る。凹部に固定された分子は、溶液中の対流の影響を受けにくい。すなわち、固体表面に吸着された分子が対流によって動くことが抑制され得る。その結果、固体表面で分子が配列し、良好な結晶核が形成され得る。した

がって、多孔性の表面は、結晶性の良い大型の単結晶を成長させ得る。また、多孔性の表面は、非多孔性の表面より大きな表面積を有し、したがって、非多孔性の表面より大きな電荷量を有し得る。

【0034】

固体表面に存在する孔の径は、図4 (a) および (b) に示すようにタンパク質等の結晶化すべき分子のサイズ（たとえば分子直径、分子半径×2または分子の最大径）と略同等とすることができる。この場合、多孔性の固体表面31aおよび31bは分子ふるいの効果を有し得る。帯電した分子30aおよび30bは、帯電した固体表面31aおよび31bの凹部にはまり込み、静電作用により固定され得る。分子が固体表面の特異的な幾何学的形状および静電的な相互作用を認識し、結晶化初期過程が促進されることが期待される。また、図4 (a) および (b) に示すように、凹凸が二次元的に規則的に配列する固体表面を与えれば、規則的な凹凸の配置に従って、分子が規則的に配置され、良好な結晶が成長することが期待される。

【0035】

また、固体表面の孔径は、図5に示すように結晶化すべき分子のサイズより小さなものでもよい。この場合でも、結晶化すべき分子30cの一部が表面31cの凹部にはまり、分子30cは、表面31cに固定され得る。

【0036】

多孔性の固体表面は、電子ビーム描画装置（電子ビーム露光装置）を用いた直接的な微細加工、あるいは電気化学的手法により形成することができる。電気化学的な手法の典型例は、陽極酸化である。図6は、陽極酸化のプロセスを示している。多孔質の表面を形成すべき固体を陽極33として、電解質溶液35に浸漬し、適当な陰極34と陽極33との間に電流を流す。電気分解反応において、陽極33は酸化され、その表面に多孔性の酸化皮膜が形成され得る。この多孔性の酸化皮膜を形成する陽極酸化に適する材料には、アルミニウム、チタンがある。

【0037】

アルミニウムは、特に好ましい材料である。通常、アルミニウムを陽極として、硫酸、シュウ酸、リン酸などの酸性水溶液（電解液）に浸し、陽極酸化を行な

うと、多孔性のアルミナ皮膜が形成される。このとき形成される細孔（多孔）は、均一でほぼ等間隔に分布する。その孔の径、深さ、間隔（密度）、形状などは、電解液の種類、ならびに印加する直流電圧の大きさおよび印加時間により制御できる。タンパク質分子のサイズは、10 nm 前後かそれ以上であるが、陽極酸化膜の孔径は、一般に 5 nm 程度まで小さくすることができる。本発明において、多孔性固体表面の孔径は、たとえば 5 nm ~ 200 nm 程度とすることができる、好ましくは 5 nm ~ 30 nm 程度とすることができる。陽極酸化に関して、「アルミニウム表面技術便覧（軽金属出版）」は、詳細な手法を記載している。また、特開平 9 - 3 1 6 6 9 2 号公報は、より小さな径の細孔を形成する技術を開示する。さらに、特開平 2 - 2 5 4 1 9 2 号公報、特開平 6 - 3 2 6 7 5 号公報および特開平 6 - 2 0 0 3 7 8 に開示される技術を用いれば、アルミナ以外の物質でも同様な多孔体を調製できる。これらの公報は、まず、アルミナ多孔体を陽極酸化により形成し、得られた多孔体の形状を他の材料に転写する技術を開示する。

【0038】

本発明による装置において、複数種の固体表面の配置パターンは、任意である。たとえば、図 7 (a) に示すように、第 2 の固体表面 4 2 a が第 1 の固体表面 4 1 a に囲まれるような配置は好ましく使用される。この場合、第 1 の固体表面は、第 2 の固体表面より顕著に広い。第 2 の固体表面に有機分子を吸着させれば、結晶核のランダムな生成を効果的に防ぎ、良好な結晶成長をもたらすことができる。すなわち、良好な結晶成長または大きな結晶の形成のためには、本発明による装置の所定の領域において、有機分子をより強く吸着させる固体表面（第 2 の固体表面）は、他の固体表面（有機分子の吸着を阻害し得る表面）より狭いことが好ましい。図 7 (a) に示すもののほか、図 7 (b) に示すように、第 1 の固体表面 4 1 b に対し、所定の幅を有する複数の第 2 の固体表面 4 2 b を所定の間隔をあけて配置してもよいし、図 7 (c) に示すように、第 1 の固体表面 4 1 c に対し、所定の形状および面積を有する複数の第 2 の固体表面 4 2 c を、所定の間隔をあけてマトリクス状に配置してもよい。図 7 (a)、(b)、(c) において、少なくとも第 2 の固体表面 4 2 a、4 2 b、4 2 c は多孔性であり、そ

の孔径は結晶化すべき分子のサイズと略同等かそれ以下である。

【0039】

複数種の固体表面の配置は、図8(a)に示すように第1の固体51a上に第2の固体52aが配置される積層構造とした方が半導体集積回路の一般的な製造方法と同様の手法を用いて少ない工程で作製できるので好ましい。しかし、図8(b)に示すように、所定の面に複数種の固体表面51bおよび52bが同じレベルで設けられる構造を有してもよい。

【0040】

また、図9に示すように第1の固体表面61に対し、これと異なる複数種の第2の固体表面62および63を配置することができる。固体表面62および63は、所定のpHを有する溶液に対し、異なる電位を有する。たとえば、固体表面61は酸化シリコンとし、固体表面62はアルミナとし、固体表面63は酸化チタンとすることができる。分離すべき特定の有機分子は、固体表面62および63のいずれかにより強く吸着され得る。有機分子をより強く吸着させ得る固体表面(第2の固体表面)の最適な材料は、目的とする有機分子により異なることが考えられる。図6に示すように第2の固体表面を複数種形成することにより、1つの装置で各種の有機分子の分離、結晶化に利用できる装置を提供できる。図6の装置では、第2の固体表面は2種類であるが、3種以上形成することもできる。このような装置も同様に半導体集積回路の一般的な製造方法を用いて容易に作製可能である。たとえば、シリコン基板上に SiO_2 膜、 TiO_2 膜、 Al_2O_3 膜を順に成膜、積層して、固体表面62および63の領域を残して Al_2O_3 膜を除去して下地の TiO_2 膜を露出させ、その後、露出した TiO_2 膜のうち固体表面63の領域を残して TiO_2 膜を除去して SiO_2 膜を露出させればよい。

【0041】

また、前述のように第2の固体表面は多孔性の表面であるが、その孔径を変えた複数種の第2の固体表面を形成することもできる。材料同様に最適な孔径も有機分子により異なることが考えられる。したがって、孔径の異なる複数種の第2の固体表面を形成しておけば、そのいずれかの第2の固体表面で良好に有機分子が選択吸着され、さらには、その表面での良好な結晶成長が期待できる。

【0042】

また、特定の有機分子の分離のため、図10に示すように、複数の装置を提供してもよい。装置71、72および73は、それぞれ、異なる固体表面71a、72aおよび73aを有する。装置71～73のいずれかにおいて、分離または結晶化がより好ましく進行し得る。同時に使用される固体表面の種類を多くすることによって、より多くの有機分子の分離または結晶化に対応することができる。

【0043】

前述したように本発明による装置において、複数種の固体表面は、同一の基材上に設けることが好ましい。図11(a)および図11(b)は、その一例を示す。装置80において、シリコン基板81上に SiO_2 膜82が形成され、その上に Al_2O_3 のアイランド84が形成されている。アイランド84の表面は多孔性である。アイランド84は、アルミナ多孔層84aおよびアルミナバリア層84bを有する。アイランド84の周りでは、 SiO_2 膜82が露出している。基板81上には、 SiO_2 膜82上で溶液85を保持するため、囲い壁86が設けられている。囲い壁86は、溶液85の流れを堰きとめるための部材である。囲い壁86により溶液を保持するための部分が形成される。この装置は、上述した酸化シリコン-アルミナの組合わせを提供する。溶液85が7～8のpHを有するとき、上述したように SiO_2 膜82は負に帯電し、多孔性アルミナのアイランド84は正に帯電する。一方、溶液85中に存在する分離すべき有機分子が4～7の等電点を有する場合、当該分子は、通常、負に帯電する。したがって、溶液85中の分子は、正に帯電するアイランド84に選択的に吸着され、その結果、アイランド84で結晶成長が起こり得る。一方、有機分子の SiO_2 膜82上への吸着は阻害される。このような装置は、結晶成長装置として使用することができる。このような装置において、 SiO_2 膜を設けずにシリコン基板上に直接多孔性のアルミナアイランドを形成し、シリコン基板そのものの表面を吸着阻害用の表面として使用してもよい。この場合、シリコン-アルミナの組合わせを提供する。また、アルミナの代わりに他の金属酸化物、金属窒化物または金属水酸化物を使用してもよい。さらに、シリコン以外の半導体、または金属の基板を使

用してもよい。ただし、有機分子を吸着させるべき固体表面（図 11 に示す装置ではアイランド 84 の表面）は、前述のように多孔性の表面であることが望ましく、陽極酸化によって容易に多孔性の表面を形成できるという理由から、アルミニウムを陽極酸化して得られるアルミナが、当該固体表面として最も好ましい。

【0044】

図 11 に示す装置のアイランドは、たとえば図 12 (a) ~ 図 12 (d) に示すような工程によって作製できる。まず、図 12 (a) に示すように、シリコン基板 81 上に SiO_2 膜 82 を形成する。次いで、図 12 (b) に示すように SiO_2 膜 82 上にアルミニウム膜 94 を形成する。これらの膜は、蒸着、スパッタリング等によって形成できる。次いで、アルミニウム膜 94 について陽極酸化を行ない、アルミニウム膜 94 の少なくとも表面部分を図 12 (c) に示すような多孔性のアルミナ層 95 に変える。アルミナ層 95 の下には、アルミニウム層 94' が残っていてもよい。通常のホトリソグラフィーに従ってレジストパターンを形成した後、レジストで覆われていない部分をエッチングすることにより、図 12 (d) に示すように SiO_2 膜 82 上に多孔性アイランド 84 が得られる。得られた構造物に囲い壁をもたらす部材を結合すれば、図 11 (a) および (b) に示すような装置が得られる。このとき、囲い壁は、溶液中の有機分子の吸着を阻害し得る材料、たとえば低い等電点を有するガラス等で形成することが望ましい。ただし、有機分子を吸着させる固体表面（アイランド）と囲い壁との距離が溶液中の有機分子の拡散距離（有機分子が溶液中で移動し得る距離）よりも十分に長い場合は、この限りではなく、他の材料で囲い壁を形成しても問題ない。また、上記工程において、シリコン基板上に形成する膜の材料を変えることにより、種々の組合わせの固体表面を有する装置を得ることができる。

【0045】

本発明による装置は、溶液の pH を測定するための手段を含むことができる。上述したように固体表面および分離すべき有機分子の表面電位または実効表面電荷は、溶液の pH に左右されるため、分離または結晶化の操作において、溶液の pH をモニタすることは、有意義である。pH 測定手段には、通常の pH メーター、イオン感応性電界効果型トランジスタ (ISFET) と基準電極を組合わせ

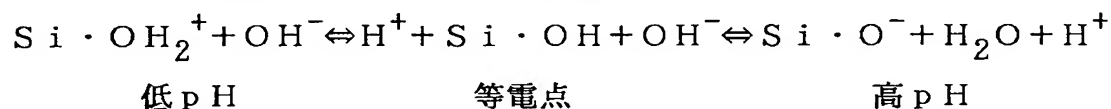
た従来型の pH センサー等を用いることができる。

【0046】

一方、pH 測定手段として、図 13 に示すような装置を用いてもよい。pH 測定装置 100 において、n 型シリコン基板 101 上には SiO_2 膜 102 が形成されている。基板 101 上には溶液保持部 110 が設けられる。溶液保持部 110 は、溶液 105 の流れを堰きとめる囲い壁 106 および SiO_2 膜 102 から構成される。囲い壁 106 上には金属電極 107 が設けられる。金属電極 107 は、 SiO_2 膜 102 の方に延びていて、溶液保持部 110 内に保持される溶液と接触するように配置される。シリコン基板 101 の裏面 (SiO_2 膜 102 が設けられた面と対向する面) には、端子電極 108 が設けられる。

【0047】

酸化物の表面は、上述したように水和反応を起こして、水酸基を生成させる。その水酸基の解離によって酸化物表面に電荷が生じる。したがって、酸化物の表面には、溶液の pH に応じた表面電位が発生する。たとえば、 SiO_2 の場合、以下のような解離がおこり、その表面電位は pH によって変化する。



他の酸化物でも同様な機構により表面電位が生じ、酸化物の種類に応じて等電点や発生する電位の値は異なる。なお、 SiO_2 の等電点はおよそ 1.8 ~ 2.8 である。また、詳細な機構は分からないが、窒化物の表面にも酸化物と同様に水溶液中でその水溶液の pH に応じた電位が発生する。たとえば、 Si_3N_4 の場合は等電点がおよそ 4 ~ 5 程度であって、それより低い pH で正の表面電位を、それより高い pH で負の表面電位を帯びる。このため、絶縁層として SiO_2 膜のかわりに Si_3N_4 膜等の窒化物膜を用いてもよい。

【0048】

したがって、図 13 に示す装置 100 において、 SiO_2 膜 102 が露出した溶液保持部 110 に水溶液を入れると、 SiO_2 膜 102 の表面にその水溶液の pH に応じた電位が発生する。したがって、シリコン基板 101 の溶液 105 に近い部分に形成される空乏層 109 の容量が変化する (空乏層の幅が変化する)

。この電位によって、酸化膜を介して設けられるシリコン基板表面のキャリア濃度が増加する。したがって、MOS (MIS) に相当する構造を有する装置 100 において、金属電極 107 と端子電極 108 との間の容量電圧特性（高周波特性）は、溶液 105 の pH に応じて変化する。この変化を、図 14 に示す。図 14 は、pH の異なる 2 種の溶液に関して容量電圧特性を示している。容量電圧特性は、図に示すように pH に応じて電圧軸方向に変化する。

【0049】

あらかじめ、図 13 に示す pH 測定装置を用いて、測定周波数 1 MHz 程度で、pH の分かっている種々の溶液の容量電圧特性を測定し、pH 値とフラットバンド電位 (V_{FB}) との関係を得ることができる。pH 値とフラットバンド電位 (V_{FB}) は、たとえば図 15 に示すような関係を有する。この関係に基づいて、未知の溶液の pH が求められる。すなわち、pH 測定装置 100 を C-V メーターおよび C-V レコーダーに接続する。次いで、溶液保持部 110 に測定すべき溶液を入れ、電極 107 と 108 との間の C-V 特性を測定し、 V_{FB} を求める。得られた V_{FB} と、予め得られた pH 値とフラットバンド電位 (V_{FB}) との関係から、当該溶液の pH が決定される。

【0050】

この pH 測定装置において、n 型 Si 基板の代わりに p 型 Si 基板を用いてもよいし、他の半導体基板、たとえば、Ge 基板や GaAs 等の化合物半導体基板を用いてもよい。また、 SiO_2 膜の代わりに他の酸化物膜たとえば Al_2O_3 膜、 TiO_2 膜を用いてもよいし、 Si_3N_4 等の窒化物膜を用いてもよい。絶縁層の厚みは、たとえば 100 Å ~ 1 μm であり、好ましくは 500 Å ~ 3000 Å である。電極用の材料には、Pt、Pd、Au 等を用いることができる。

【0051】

この pH 測定装置は、極めて単純な構造を有し、通常の半導体加工技術（リソグラフィ、CVD、エッチング等）を用いて簡単に製作できる。当該装置の溶液保持部にピペットなどで溶液を滴下し、数 μl ~ 数十 μl の微量の溶液について pH を測定できる。この装置は、シリコン基板上に作製することができ、したがって、本発明による分離装置と同じ基板上に作り込むことができる。そのよう

な組み合わせられた装置を以下の実施例に示す。

【0052】

【実施例】

図16および図17に示すような装置を作製した。装置130は、シリコン基板131を含む基台部141と、それに接合されたパイレックスガラス製の溶液保持プレート（囲い壁）142とを有する。基台部141のサイズは、15mm×15mmである。基台部141とプレート142とによって、2つの結晶成長用セル132aおよび132b、1つの沈殿剤用セル133、ならびに1つのpHモニター用セル134が形成される。プレート142のサイズは、12mm×12mmであり、高さは0.5mmである。シリコン基板131の表面は、シリコン酸化膜135で被覆されている。セル132a、132bおよび134は、直径約4mmの円筒形または円錐台形であり、セル133は、5.5mm×5.5mmの角柱形である。結晶成長用セル132aおよび132b、ならびにpHモニター用セル134内には、シリコン酸化膜135上に多孔性アルミナのアイランド136が複数形成されている。アイランド136は、図19(a)および図19(b)に示すような線状であり、その幅は約100μm～200μmである。また、隣り合うアイランド間の距離は、約0.2mm～1mmである。セル内の場所またはセルによって、このアイランド間の間隔は、異なっている。たとえば、セル132aには、図19(a)に示すようなパターンのアイランドが形成され、セル132bには、図19(b)に示すようなパターンのアイランドが形成される。pHモニター用セル134を形成するプレート142a上には、電極144が形成され、シリコン基板131の裏面にも電極145が形成される。図18に示すように電極144は、Ti層144aおよびPt層144bを有する二層構造となっている。電極144上には、外部との接続用の端子146が設けられる。シリコン基板131、シリコン酸化膜135、電極144、および電極145によりpHセンサー部が構成される。図16および17に示す装置において、pHモニター用セル134内のアイランド136は必ずしも必要でない。さらに、シリコン基板131の裏面で結晶成長用セルに対向する位置には、必要に応じてセル132aおよび132bを加熱するための発熱素子147が設けら

れる。発熱素子は、溶液を加熱し、結晶の成長を制御する。

【0053】

図20は、好ましい発熱素子の一具体例を示す。発熱素子164において、基材161上には、パッド165aおよび165bが形成される。パッド165aと165bとの間には、コンパクトに折り畳まれた電熱線167が設けられる。パッド165aおよび165bならびに電熱線167は、基材161上に形成された薄膜である。基材161には、シリコン基板やガラス基板等を用いることができる。パッド165aおよび165bは、アルミニウム、銅等の良導体からなる薄膜であり、電熱線167は、Cr、Fe-Cr-Al系合金、Ni-Cr系合金等の電熱材料からなる薄膜である。電熱線167の隣には、温度測定用の抵抗線168が設けられる。抵抗線168の両端には、パッド165cおよび165dが設けられる。パッド165cおよび165dは、アルミニウム、銅などの良導体からなる薄膜であり、抵抗線168は、Cr、銅マンガン合金、銅ニッケル合金などの抵抗材料からなる薄膜である。厳密な温度管理が必要な場合、図20に示すように電熱線の隣に温度測定用の抵抗線を設けることが好ましい。たとえば、電熱線167の厚みは、 $0.1\mu\text{m}\sim 1.0\mu\text{m}$ であり、パッド165a \sim 165dの厚みは、 $0.5\mu\text{m}\sim 2.0\mu\text{m}$ である。電熱線167の幅は、たとえば $50\mu\text{m}\sim 100\mu\text{m}$ である。一方、発熱素子の温度を正確に測定するため、抵抗線168の熱容量はできるだけ小さくすることが望ましい。したがって、抵抗線168のサイズは、必要な範囲でできるだけ小さくすることが望ましい。たとえば抵抗線168の幅は、 $10\mu\text{m}$ 以下が好ましく、たとえば $1\sim 10\mu\text{m}$ である。抵抗線168の厚みは、 $0.3\mu\text{m}$ 以下が好ましく、たとえば $0.1\sim 0.3\mu\text{m}$ である。

【0054】

図16に示す装置の基台部は、半導体装置の一般的な製造プロセスを使用して、シリコンウェーハ上に一度に多数作製することができる。たとえば、図21(a)に示すように、まず、シリコンウェーハ181の表面に熱酸化によって約200nmの厚みのシリコン酸化膜182を形成する。次に、図21(b)に示すように、シリコン酸化膜182上にスパッタリングまたは蒸着により厚み約3～

5 μ m のアルミニウム膜 184 を形成する。その後、陽極酸化法を用いてアルミニウム膜 184 を酸化し、図 21 (c) に示すように、アルミナ層 186 を形成する。このとき得られるアルミナ層 186 は、微細な凹凸が配列された多孔性の表面を有する。アルミニウム膜のほぼ全体をアルミナ層に変えてもよいし、アルミニウム膜の一部をアルミナに変えてもよい。次いで、図 21 (d) に示すように、通常のホトリソグラフィーに従ってアルミナ層 186 上にレジストパターン 185 を形成する。通常用いられるレジストをマスクとするエッチングにより、アイランド部のみを残してアルミナ層を除去する。かくして、図 21 (e) に示すように、シリコン酸化膜 182 上に多孔性アルミナのアイランド 186' が形成される。その後、シリコンウェーハを切断（スクライビング）し、得られたチップに電極 185 および必要に応じ発熱素子 187 を設けて、多数の基台部を得る（図 21 (f)）。

【0055】

溶液保持プレートも、一般的なエッチング技術およびスパッタリング技術を用いて、たとえば図 22 (a) ～図 22 (f) に示すように作製される。まず、図 22 (a) に示すように、パイレックスガラス板 191 の表面に所定のパターンでレジストマスク 192 を形成する。次いで、フッ酸によるウェットエッチングまたはダイヤモンドブラスト法を行なって貫通孔 193 a および 193 b をガラス板 191 に形成する（図 22 (b)）。次に、pH モニタ用セルとなるべき貫通孔 193 a 以外の場所を SUS 板のハードマスク 194 a で覆い、スパッタリングによって Ti/Pt 膜 195 を形成する（図 22 (c)）。その後、必要な部分をハードマスク 194 b で覆い、スパッタリングにより接続用の Au 端子 196 を形成する（図 22 (d)）。かくして、図 22 (e) に示すような電極部 197 を有する溶液保持プレート 198 が得られる。得られたプレートを、図 21 (a) ～ (f) に示すプロセスにより得られた基台部に、陽極接合などにより結合し、図 16 に示す装置が得られる（図 22 (f)）。

【0056】

図 16 に示す装置 130 において、次のような方法により、タンパク質の結晶を調製する。まず、結晶成長用セルと pH モニター用セルに、目的とするタンバ

ク質が溶解した溶液（母液）をたとえば約 $30\ \mu\text{l}$ 滴下する。溶液中のタンパク質の濃度は $10\sim 50\ \text{mg/ml}$ 程度である。最適な濃度は目的とするタンパク質の種類によって異なる。未知のタンパク質の結晶化を行なう場合、濃度を変えた複数種の溶液を調製し、それらについて、図 16 に示す装置を複数用意し、同時に結晶成長を行なえばよい。このとき、溶液の pH は、タンパク質およびシリコン酸化物の等電位点より高く、アルミナの等電位点よりも低くなるように調整する。溶液の pH の調整は、緩衝溶液の添加により行なう。シリコン酸化物の等電位点は約 2 であり、アルミナのそれは約 9 である。したがって、たとえば、タンパク質の等電位点が 7 である場合、溶液の pH を約 8 に調整する。こうすれば、タンパク質およびシリコン酸化膜の表面電位は負となり、多孔性アルミナの表面電位は正となる。溶液の最適な pH も、目的とするタンパク質により異なる。したがって、pH を変えた複数種の溶液を調製し、これらについて同時に結晶化を行なうことが好ましい。また、沈殿剤用セルに沈殿剤を入れる。沈殿剤には、たとえば 1M の NaCl 溶液 2 ml と pH が 4.6 の標準緩衝溶液 2 ml とを混合したものを用いる。

【0057】

図 23 に示すように、装置 130 のセルを透明なガラスの蓋 200 で密封し、冷暗所に約 100 時間保管する。タンパク質分子は、静電的な引力により、アルミナのアイランド部に集められ、固定される。アイランド部でタンパク質の結晶核が形成され、結晶成長が進む。結晶成長の様子は、透明な蓋の上から顕微鏡により観察される。その際、図 23 に示すように、pH モニター用セルの電極に C-V メーター 201 を接続し、X-Y レコーダー 202 で C-V 特性を測定する。これにより、結晶成長中の溶液の pH がモニターされる。溶液の pH は、事前に調整してあるものの、結晶成長中に変化し得る。タンパク質の結晶性は、溶液の pH の微妙な変化に影響され得る。したがって、実際に結晶が成長していく過程において pH の微妙な変化を把握することは重要である。

【0058】

本発明の装置を結晶成長用（結晶作製用）装置として適用する場合は、結晶成長用セルを少なくとも 1 つ有していればよい。沈殿剤は別の容器に入れて結晶成

長用装置と並べて置けばよく、pHモニターも必ずしも必要ではない。ただし、同一の基板上に結晶成長用セル、pHモニター用セル、沈殿剤用セルを作製し、1チップとした方が、使い勝手がよく好ましい。このような1チップ化した装置は、前述のように半導体装置の一般的な製造プロセスを用いて容易に作製できる。

【0059】

また、より多い数のセルを有する装置を用いれば、より多くの条件下（含有するタンパク質の濃度やpHなどの条件を変えた複数種の母液）で、同時に結晶化の実験を行なうことができる。たとえば、図24に示す装置は、この要求に答えることができる。装置210は、9つの結晶成長用セル211～219、1つのpHモニター用セル221および2つの沈殿剤用セル231および232を有する。タンパク質の濃度を変えた複数種の母液を用いて、結晶化を行うような場合には、装置210のように複数の結晶成長用セルに対してpHモニター用セルは1つあればよいが、pHを変えた複数種の母液を用いる場合には、結晶成長用セルと同数のpHモニター用セルを有することができる。また、pHをモニターする必要がない場合は、沈殿剤用セルを除いて、すべてを結晶成長用セルにすることもできる。

【0060】

【発明の効果】

本発明によれば、特定の固体表面、特に多孔性固体表面、に選択的に有機分子を吸着させ、それによって、対流の有機分子への影響を低減し、有機分子の結晶核の形成を安定化させることができる。また本発明によれば、微結晶の大量生成を抑制または制御することができ、X線構造解析を可能にし得る大型の結晶を得ることができる。さらに本発明によれば、多数の固体表面を結晶化に用いることによって、あらゆる種類の有機分子の結晶化に対応することができる。また、本発明では、極微量の試料について結晶化を行なうことができる。

【0061】

本発明は、製薬産業や食品産業等において、種々の高分子化合物、特に高分子電解質を精製または結晶化するために用いることができる。本発明は特に、酵素

および膜タンパク質等のタンパク質、ポリペプチド、ペプチド、ポリサッカライド、核酸、ならびにこれらの複合体および誘導体等を精製または結晶化させるため好ましく適用される。特に本発明は、生体高分子の精製または結晶化のため好ましく適用される。また本発明の装置は、生体高分子等を選択的に吸着および固定化することが可能なため、バイオセンサ、バイオセンサによる各種生体組織および生体物質の測定装置への応用等が可能である。

【図面の簡単な説明】

【図 1】

本発明による装置の一具体例を示す概略断面図である。

【図 2】

溶液中の 2 種の固体表面およびタンパク質の表面電荷が、溶液の pH によって変化する様子を示す図である。

【図 3】

溶液中の 2 種の固体表面およびタンパク質の表面電荷が、溶液の pH によって変化する様子を示す図である。

【図 4】

(a) および (b) は、本発明による装置において、多孔性の固体表面に有機分子が吸着および固定される様子を示す模式図である。

【図 5】

本発明による装置において、多孔性の固体表面に有機分子が吸着および固定される様子を示す模式図である。

【図 6】

本発明による装置の製造に用いられる陽極酸化の方法を示す模式図である。

【図 7】

(a) ~ (c) は、本発明による装置において、複数の固体表面が配置されるパターンの例を示す平面図である。

【図 8】

(a) および (b) は、本発明による装置において、複数の固体表面が配置されるパターンの例を示す断面図である。

【図 9】

本発明に従い、複数の好ましい吸着表面を有する装置の一例を示す平面図である。

【図 1 0】

本発明に従い、複数の装置で条件の異なる結晶化を行なうことを示す図である。

【図 1 1】

本発明による装置のもう一つの例を示す (a) 断面図および (b) 平面図である。

【図 1 2】

(a) ~ (d) は、図 1 1 (a) および (b) に示す装置を製造する方法を説明する概略断面図である。

【図 1 3】

本発明の装置に設けられる p H センサーの一例を示す概略断面図である。

【図 1 4】

図 1 3 に示す p H センサーで測定される容量電圧特性の例を示す図である。

【図 1 5】

図 1 3 に示す p H センサーで測定される容量電圧特性から求められるフラットバンド値と溶液の p H との関係を示す図である。

【図 1 6】

本発明による装置の他の例を示す斜視図である。

【図 1 7】

図 1 6 に示す装置の断面図である。

【図 1 8】

図 1 6 に示す装置における電極を拡大した断面図である。

【図 1 9】

(a) および (b) は、図 1 6 に示す装置において結晶成長用セルに設けられるアイランドのパターンを拡大して示す平面図である。

【図 2 0】

図 16 に示す装置が有する発熱素子の構造を拡大して示す斜視図である。

【図 21】

(a) ~ (f) は、図 16 に示す装置の基台部を製造する方法を示す概略断面図である。

【図 22】

(a) ~ (f) は、図 16 に示す装置の溶液保持プレートを製造する方法を示す概略断面図である。

【図 23】

図 16 に示す装置において pH を測定する流れを示す模式図である。

【図 24】

本発明による装置のさらなる例を示す平面図である。

【図 25】

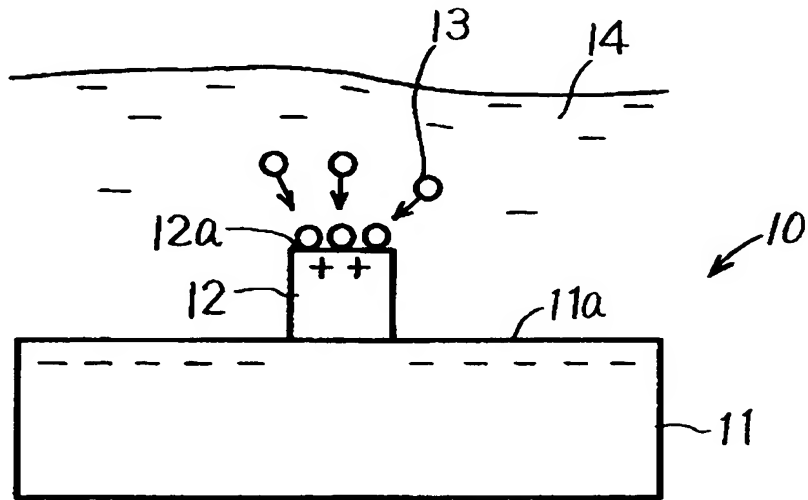
(a) および (b) は、従来の結晶成長法を示す模式図である。

【符号の説明】

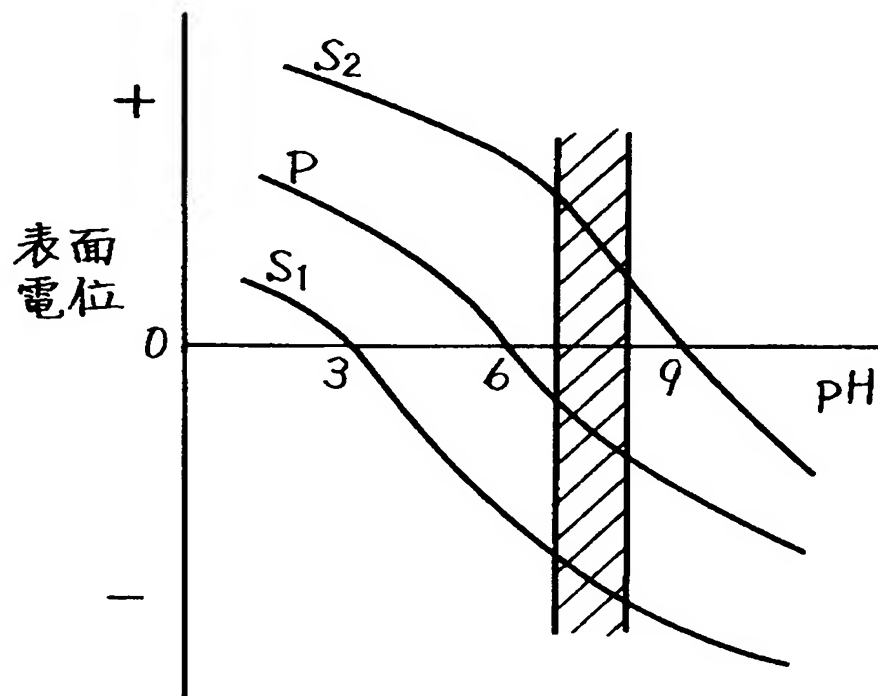
- 11 第1の固体
- 11a 第1の表面
- 12 第2の固体
- 12a 第2の表面
- 13 有機分子
- 14 溶液

【書類名】 図面

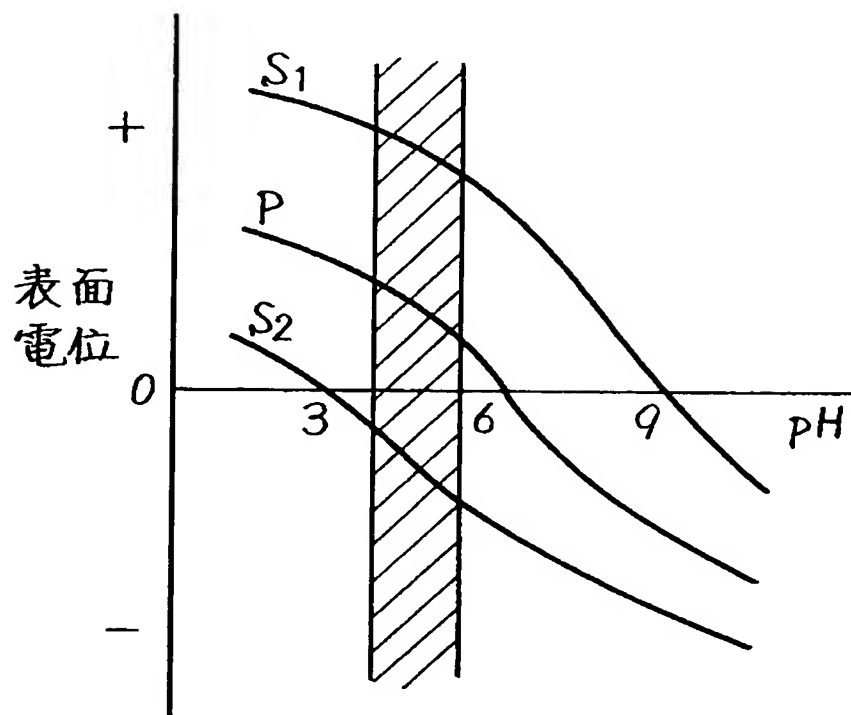
【図 1】



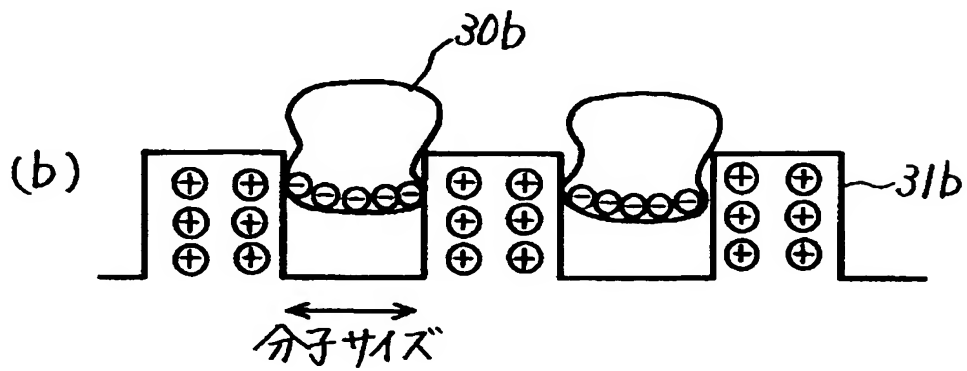
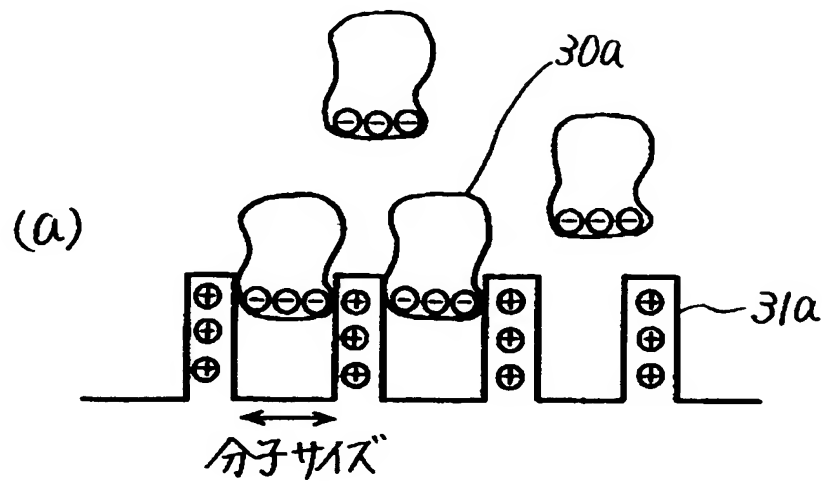
【図 2】



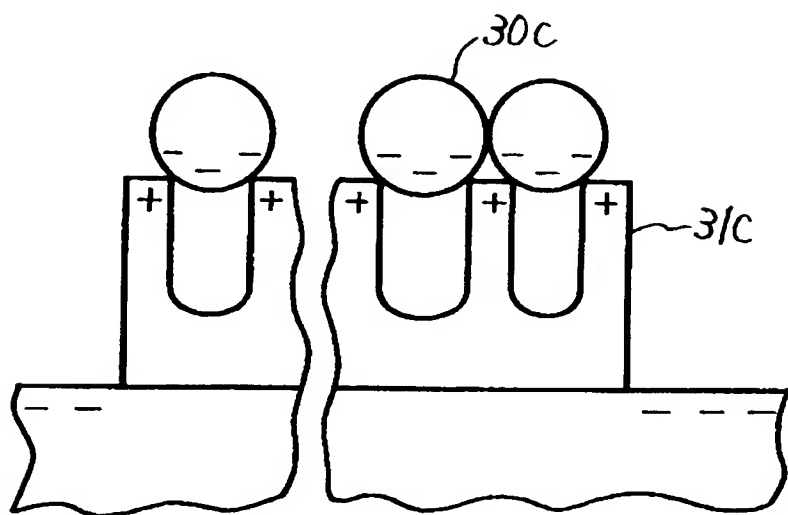
【図3】



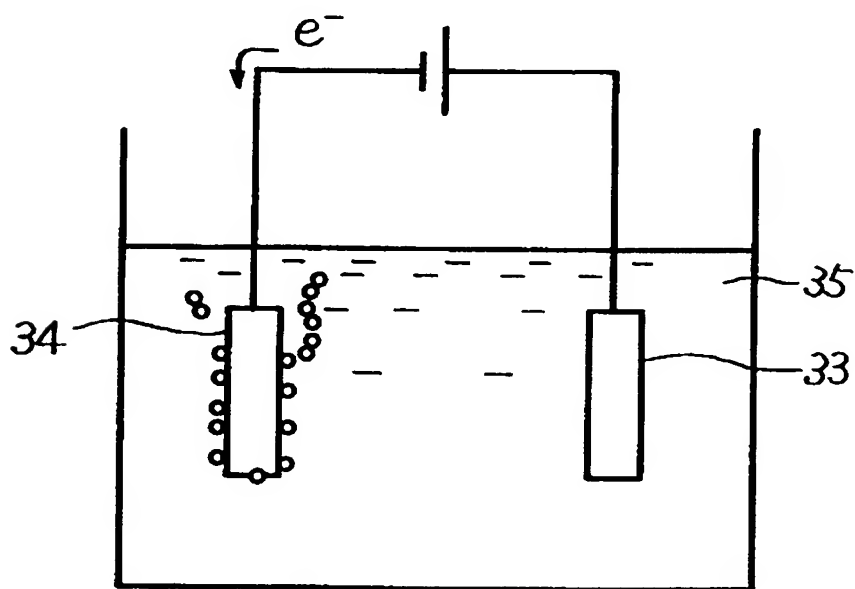
【図 4】



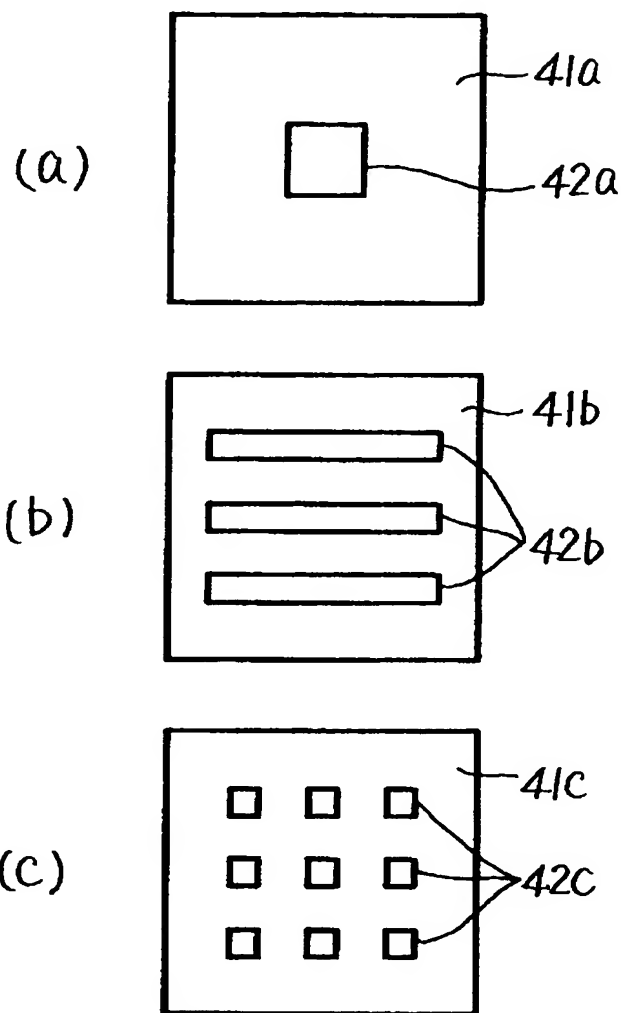
【図 5】



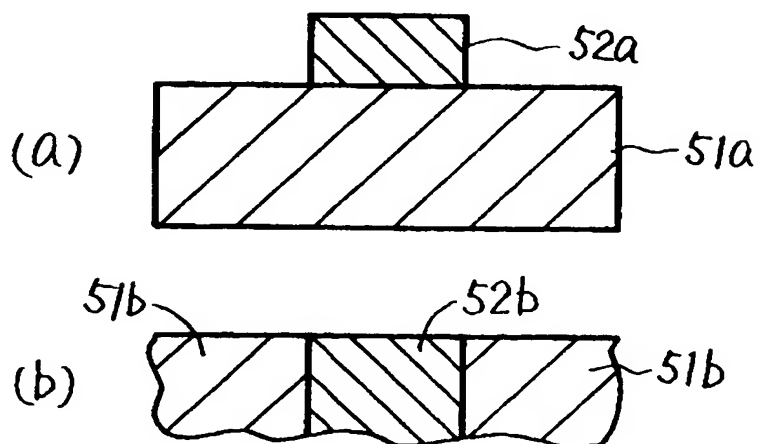
【図 6】



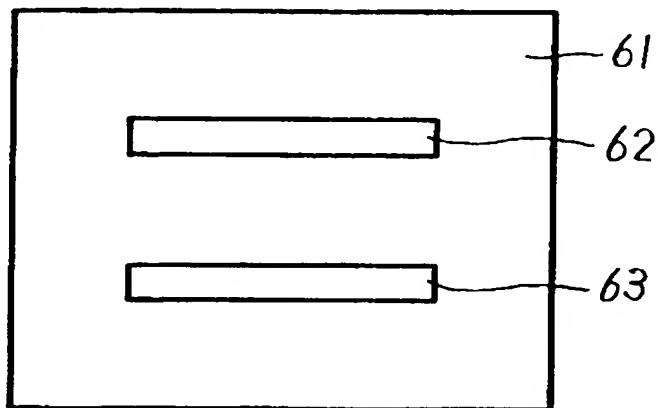
【図 7】



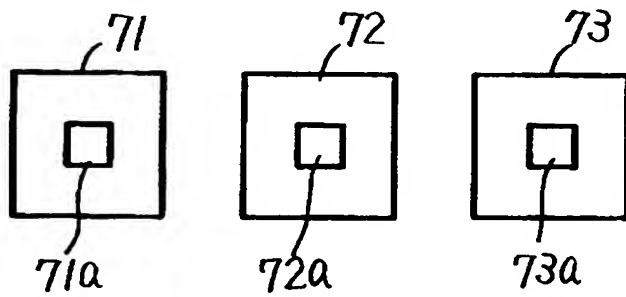
【図 8】



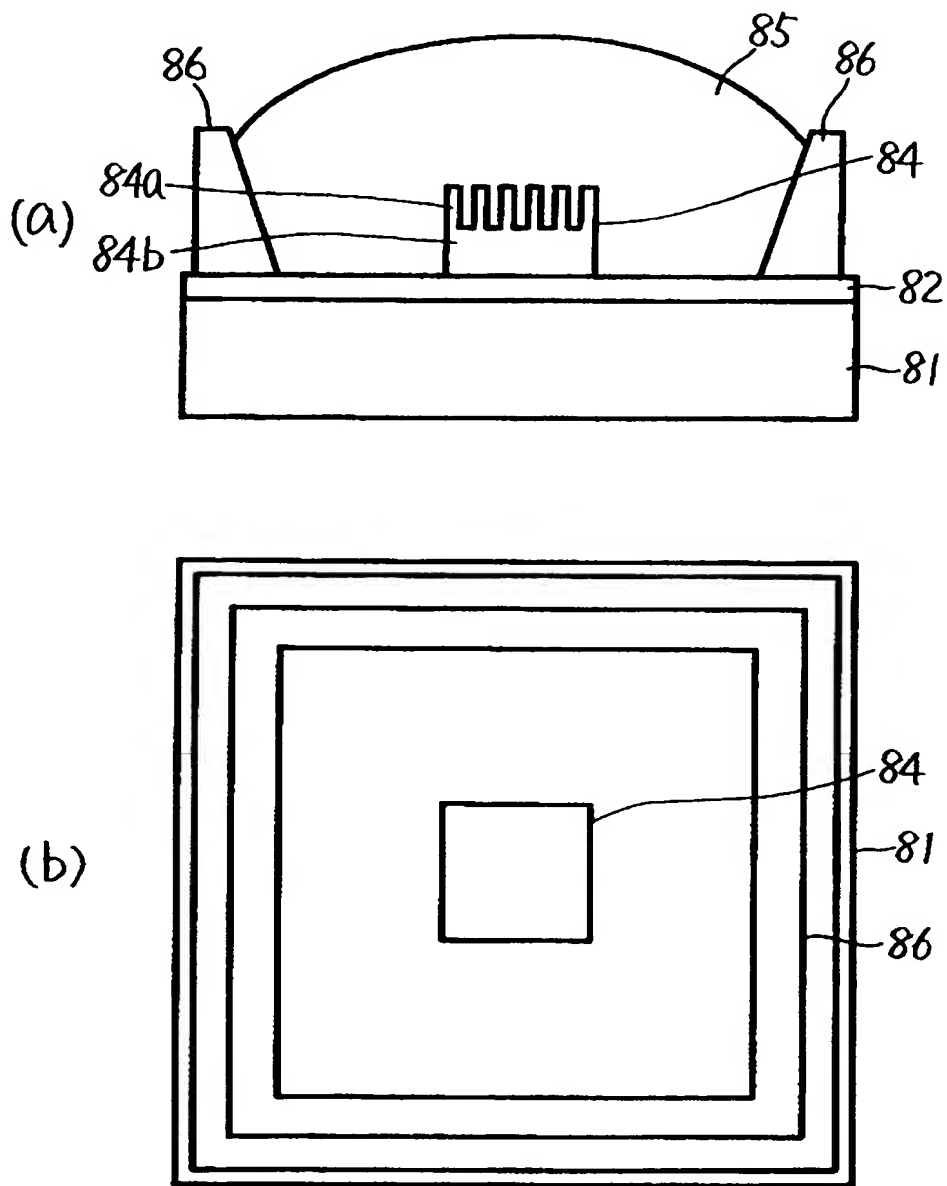
【図 9】



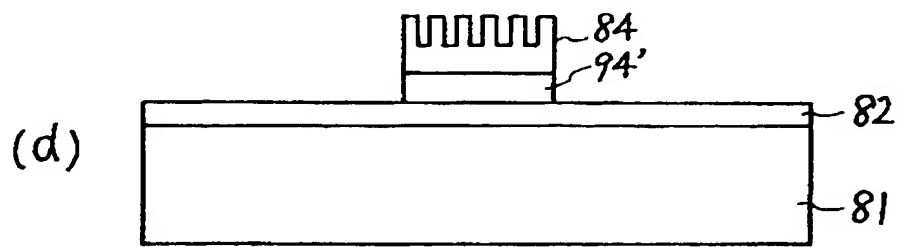
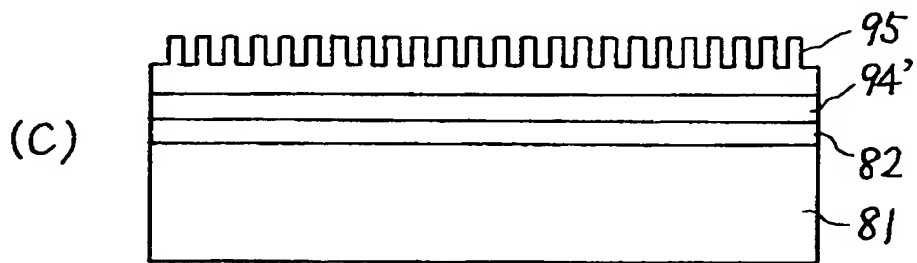
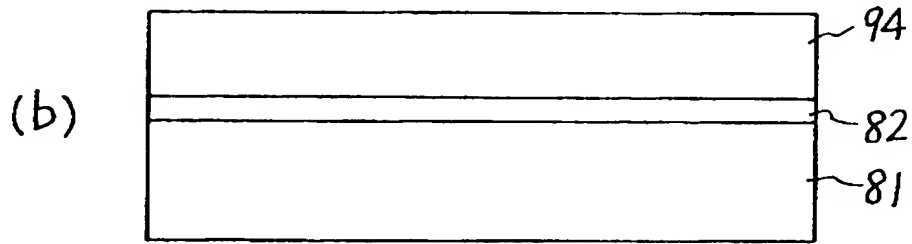
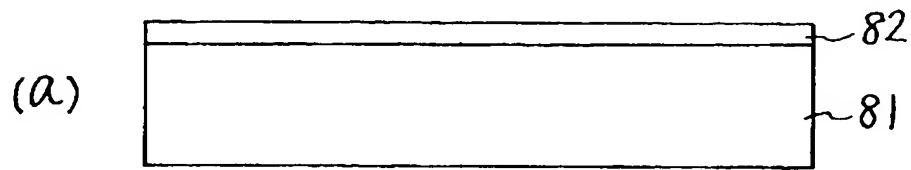
【図 1 0】



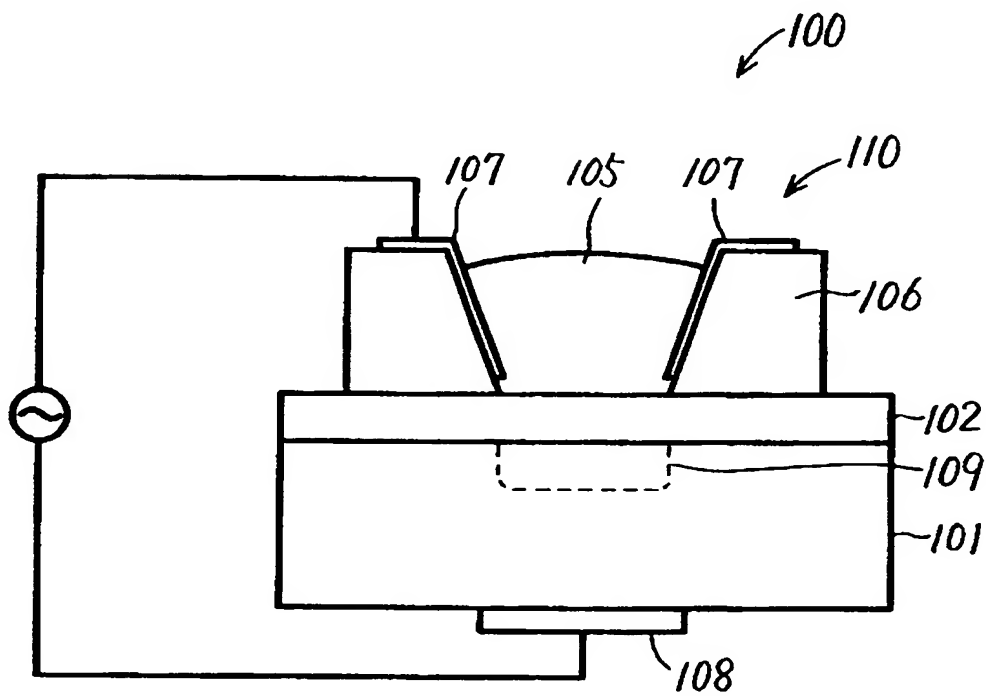
【図 11】



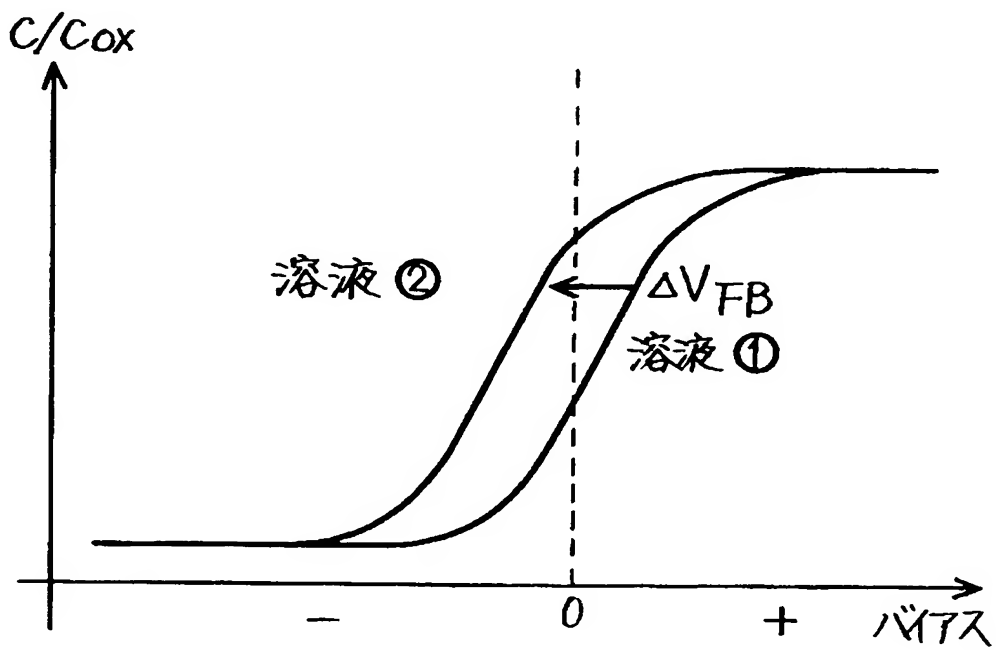
【図 1 2】



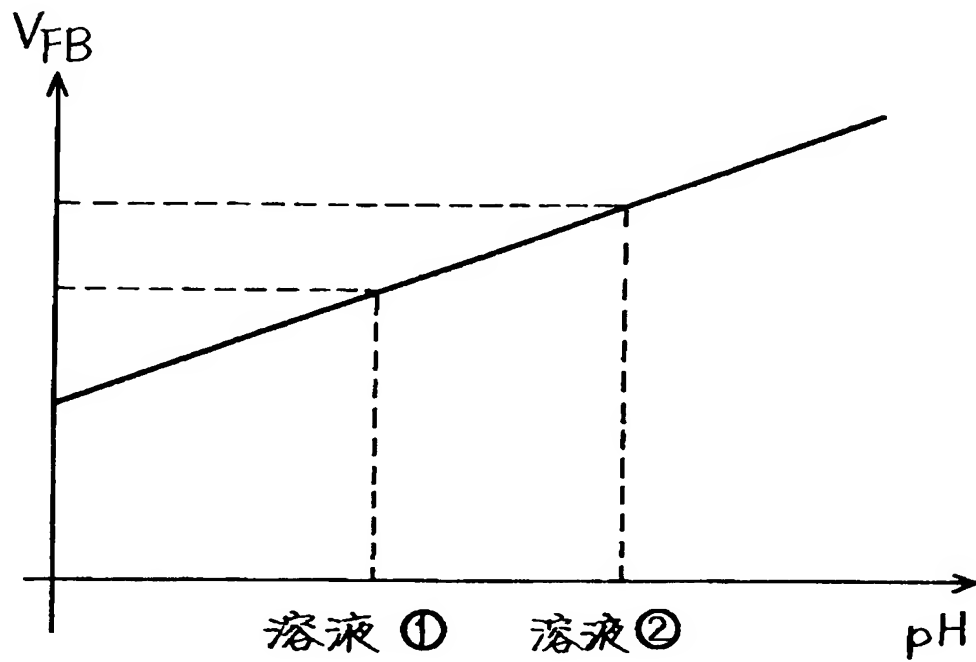
【図 1 3】



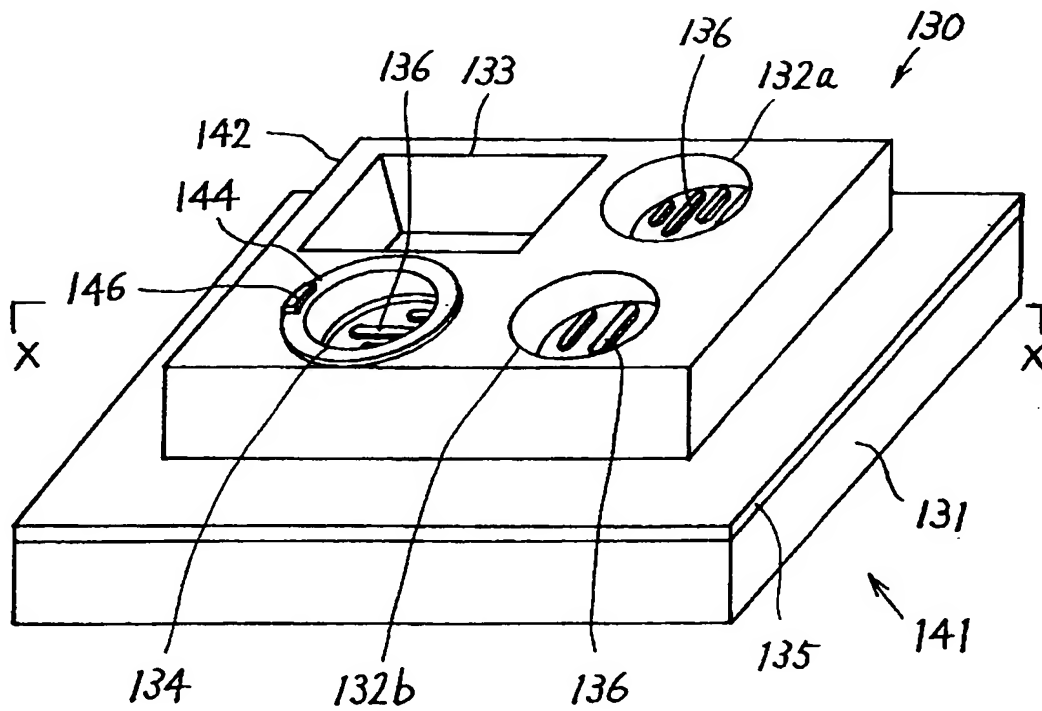
【図 1 4】



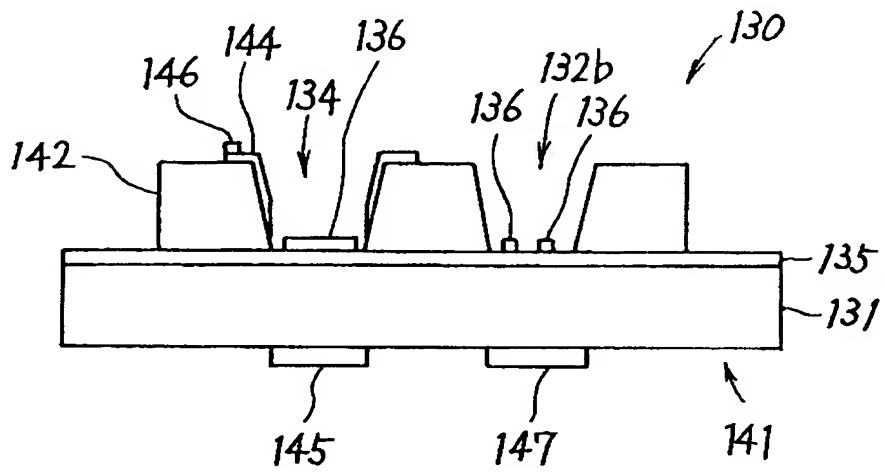
【图 15】



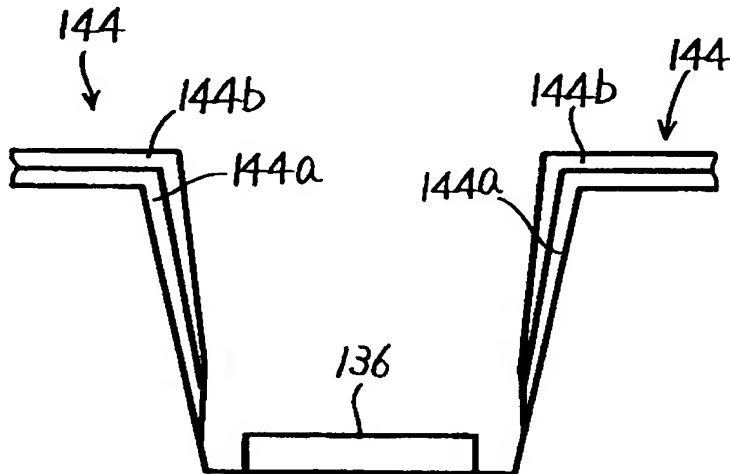
【图 16】



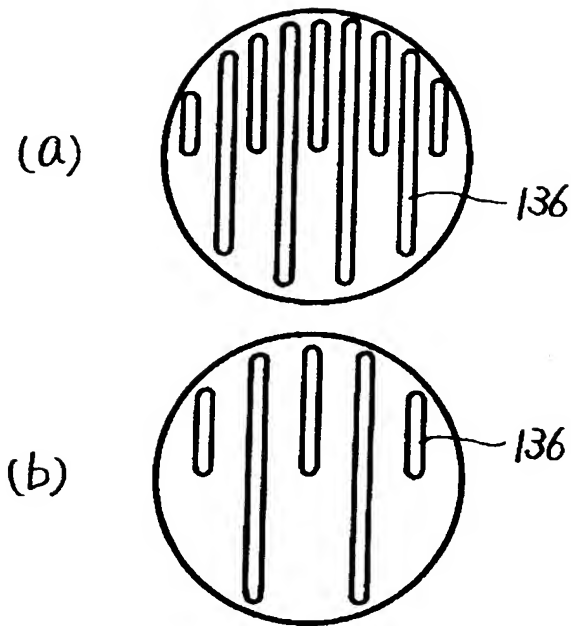
【図 1 7】



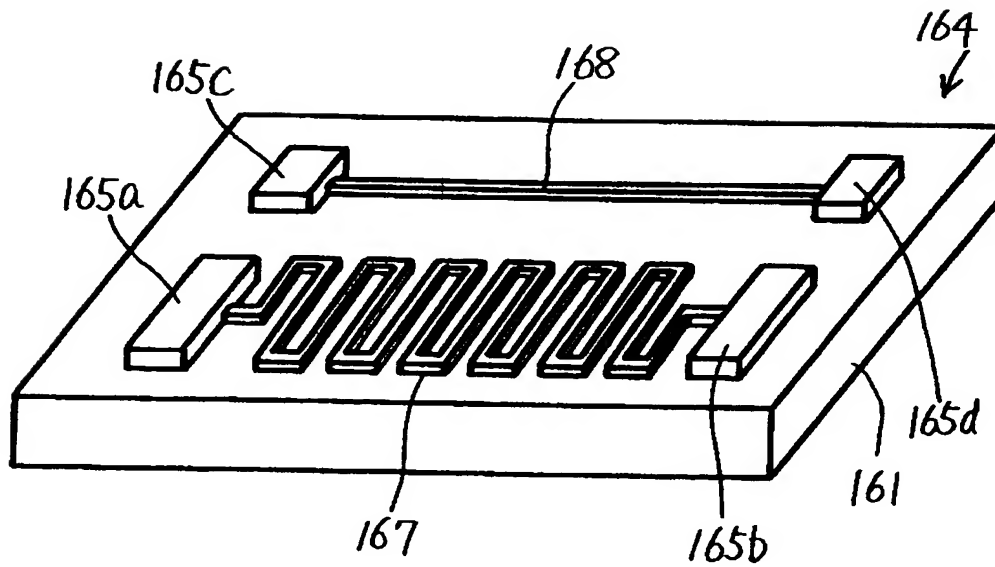
【図 1 8】



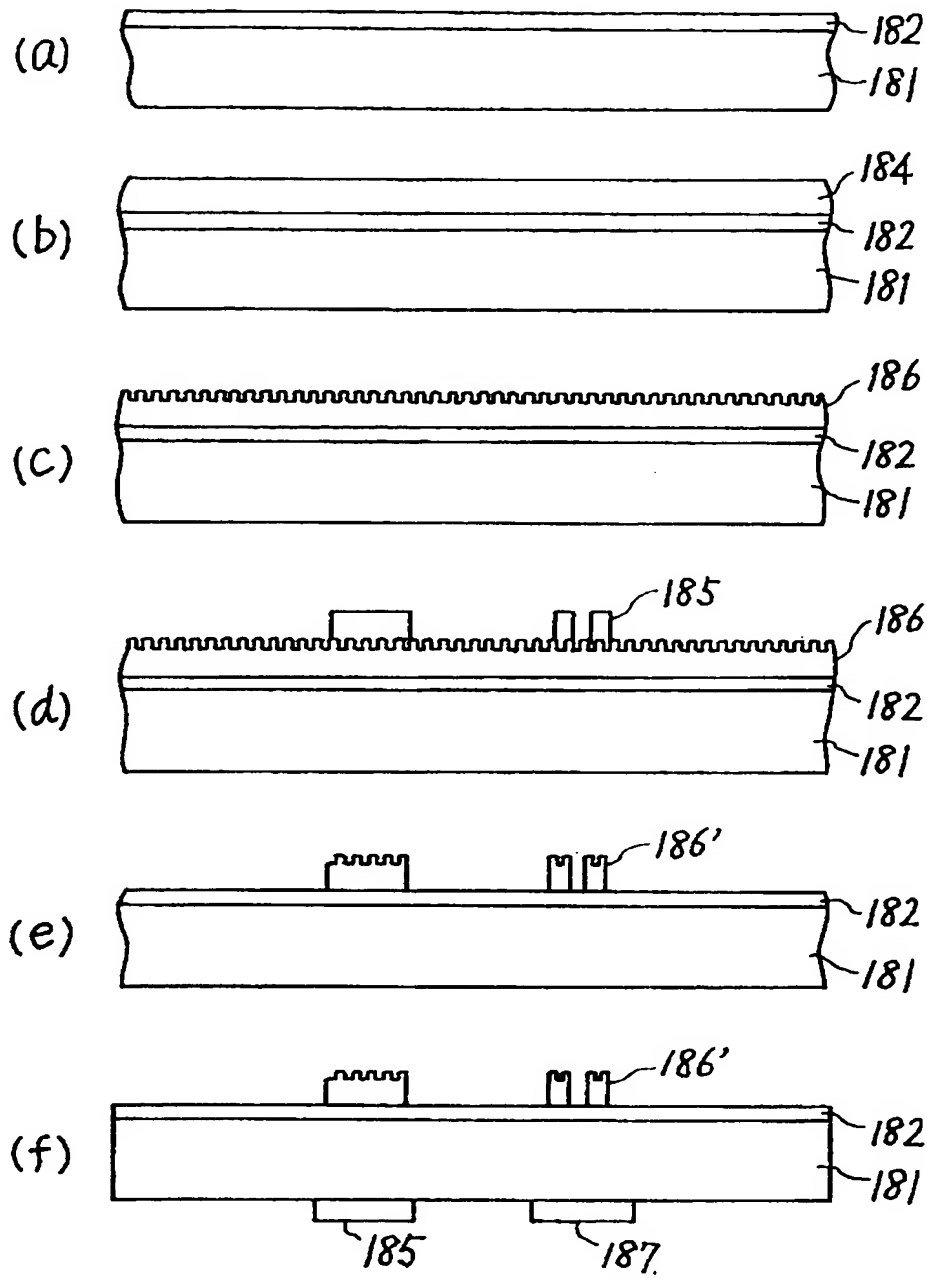
【図 1 9】



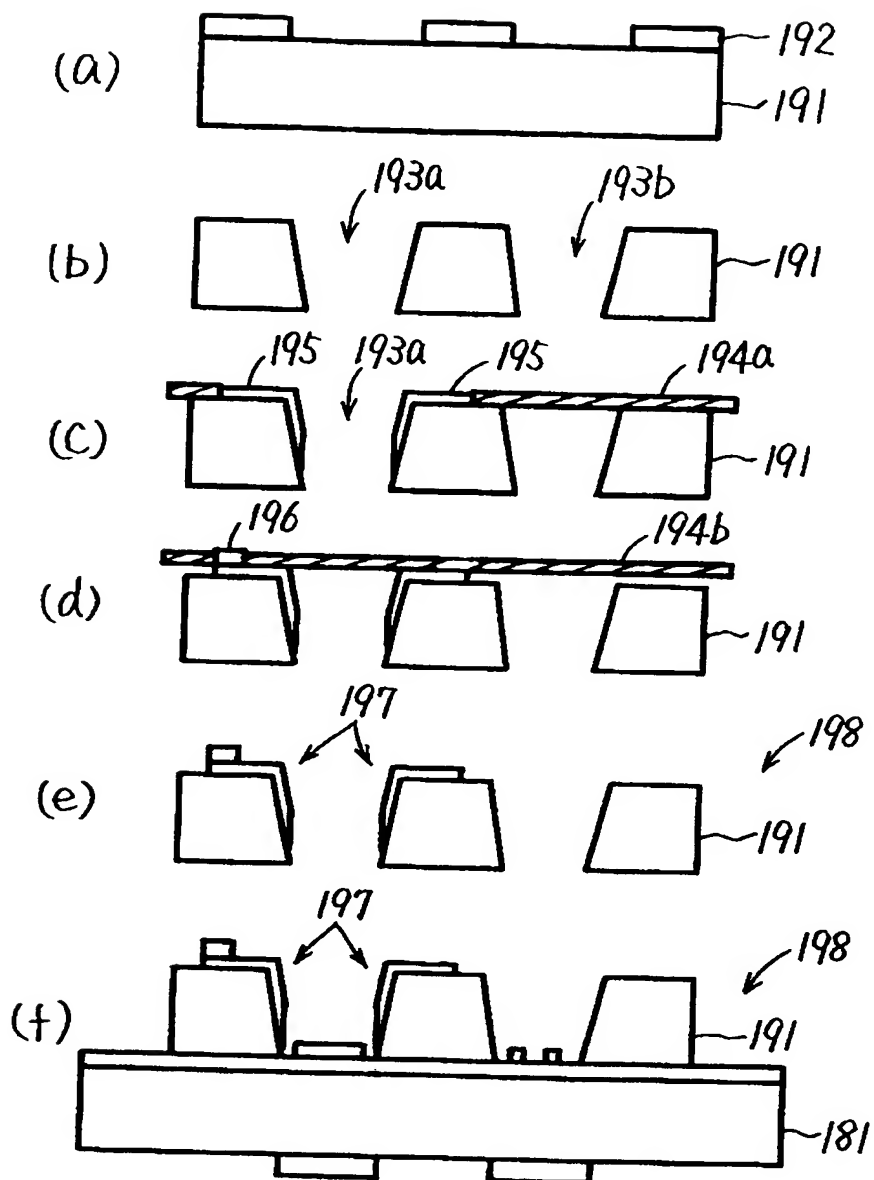
【図 2 0】



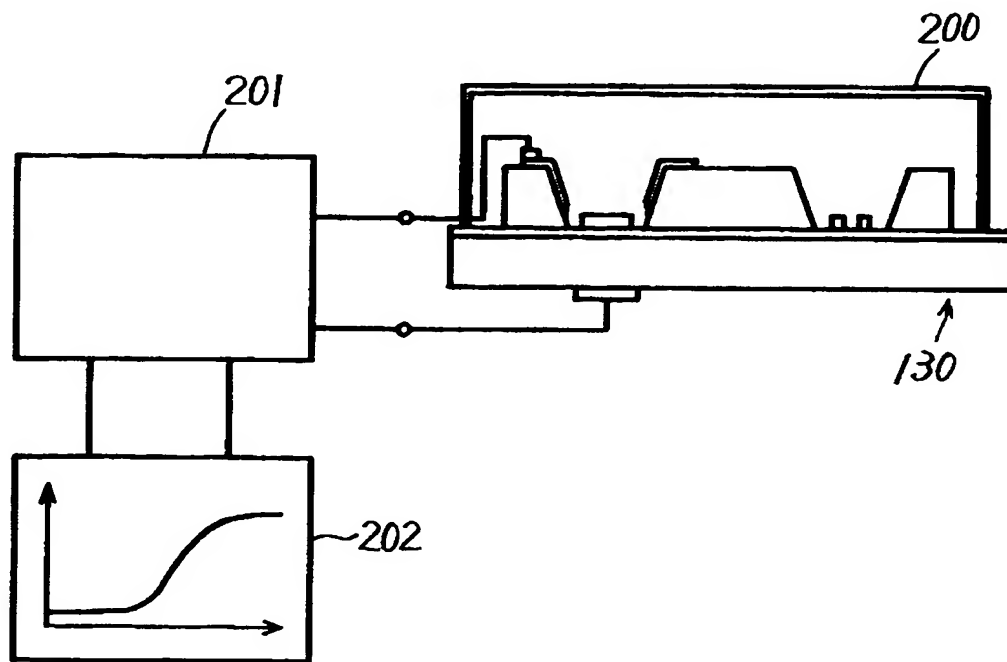
【図 21】



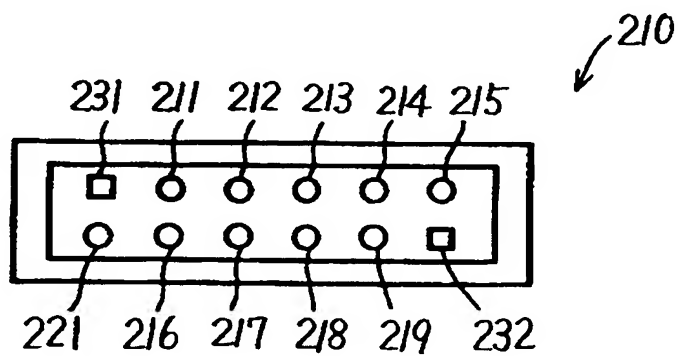
【図 22】



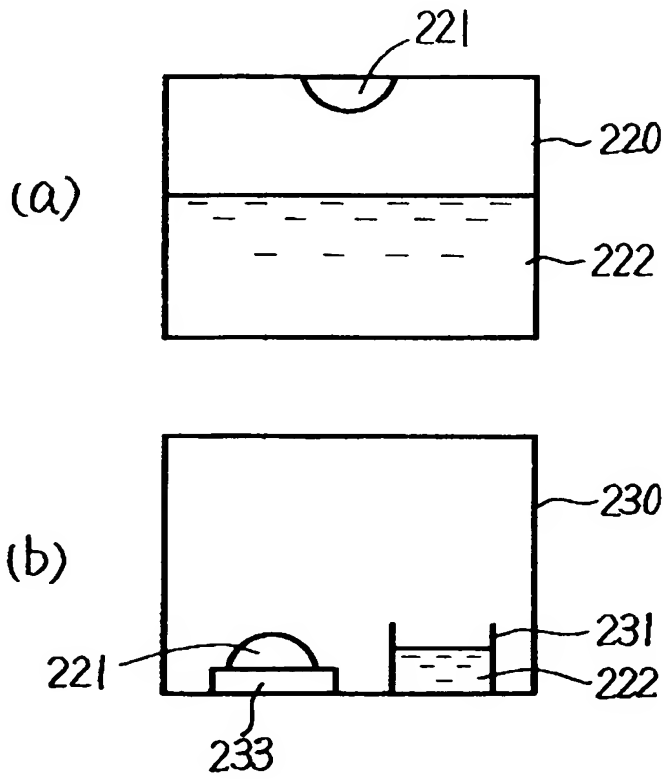
【図 2 3】



【図 2 4】



【図 2 5】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 タンパク質等の生体高分子の結晶化に有用な装置および方法を提供する。

【解決手段】 結晶成長用装置 1 0 は、シリコン酸化物からなる固体表面 1 1 a およびアルミナからなる固体表面 1 2 a を有する。アルミナは、陽極酸化により形成されたものであり、固体表面 1 2 a は多孔性である。この装置 1 0 において、これらの固体表面 1 1 a および 1 2 a は、同時に溶液 1 4 に接触するよう配置されている。これらの固体表面 1 1 a および 1 2 a は、溶液 1 4 と接触するとき、互いに異なる表面電位またはゼータ電位を有する。たとえば、固体表面 1 1 a は負に帯電し、多孔性の固体表面 1 2 a は正に帯電する。したがって、溶液 1 4 中で負に帯電したタンパク質等の有機分子 1 3 は、正に帯電する固体表面 1 2 a に選択的に吸着される。

【選択図】 図 1

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000002118]

1. 変更年月日	1990年 8月16日
[変更理由]	新規登録
住 所	大阪府大阪市中央区北浜4丁目5番33号
氏 名	住友金属工業株式会社



1

